

慢性関節リウマチにおけるTNF の動態 -血清, 関節液, 関節組織での解析-

著者	齋藤 隆幸
号	2594
発行年	1993
URL	http://hdl.handle.net/10097/20985

氏 名（本籍） さい とう たか ゆき
齋 藤 隆 幸

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 2 5 9 4 号

学位授与年月日 平 成 5 年 9 月 8 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 2 項該当

最 終 学 歴 昭 和 59 年 3 月 27 日
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 慢性関節リウマチにおける TNF α の動態
—血清, 関節液, 関節組織での解析—

（主 査）

論文審査委員 教授 櫻 井 実 教授 名 倉 宏

教授 菅 村 和 夫

論 文 内 容 要 旨

Tumor necrosis factor α (TNF α) は、17kD の糖鎖を持たないタンパク質で、炎症と免疫の制御に重要な役割を演じているサイトカインの一つである。TNF α がヒトの慢性関節リウマチ（以下 RA）の発症と持続及び関節破壊に大きな役割を担っていることが示唆されているが、臨床的病態との具体的な関係は未だ示されていない。

そこで、本研究では RA 患者の血清、関節液での TNF α の定量、滑膜、関節組織での保有細胞の同定、発現の程度から、TNF α の RA の病態への関与を検討した。

【対 象】

対象とした症例は、全例で161例、うち RA 113例で、対照は、OA 33例、健常人（血清のみ）15例であった。このうち、RA 15例で血清、関節液、滑膜での TNF α の検討が可能であった。

【方 法】

1) RA 患者の血清および関節液の中の TNF α 濃度は、ヒト TNF α ELISA キットを用いて測定した。対照は、OA 患者の血清、関節液と、健常人の血清である。この結果得られた TNF α 濃度を、血清と関節液との間で比較するとともに、種々の臨床データとの比較も試みた。

2) 組織における TNF α 保有細胞の同定とその分布は、採取した滑膜、軟骨・骨組織に、ウサギ抗ヒト TNF α 抗体を用いた Avidin-Biotin-Complex 法による免疫組織化学染色を施行し、検討した。

3) さらに、RA 滑膜の組織像と RA 関節組織での TNF α の発現の程度との相関について検討した。その際 TNF α の発現の程度については、TNF α を比較的強力に発現していた滑膜表層中の TNF α 保有細胞数の百分率で表した。また、滑膜の組織像については、HE 染色に基づき、まず、リンパ球の集簇程度とその背後にみられる炎症像の2つの因子を指標とした。リンパ球の集簇程度は、全くみられない(0)から高度に発達した(3)までの4段階に、背後に伴う炎症像は、A型：浮腫像、B型：瀰漫性炎症性細胞浸潤像、C型：毛細管増生を伴う肉芽組織像、D型：線維化像、の4つに分類し、検索した関節はこれら2つの因子を組み合わせで表現した。

【結 果】

1) 血清中の TNF α 濃度を、RA 83例、OA 16例、健常人 15例について測定した。RA では平均 30.8 ± 65.6 pg/ml、OA 6.8 ± 7.3 pg/ml、健常人 4.5 ± 2.1 pg/ml とやはり RA で有意に高値を示

した ($P<0.01$, $P<0.001$)。関節液中の TNF α 濃度を, RA71 関節, OA27 関節について測定した。RA で平均 $61.1\pm68.9\text{pg/ml}$, OA $5.8\pm4.0\text{pg/ml}$ と RA で有意に高値を示した ($p<0.001$)。RA で, 血清・関節液の両者を測定した48関節について見ると, うち46関節で, 関節液で血清に比較し, より高値を示したが, 両者の間に, 明確な相関は認められなかった。血清および関節液中 TNF α 濃度と種々の臨床データとを比較検討した結果, 高度の相関を示す臨床データはなかったが, 血清 TNF α 濃度と血清 IgG 濃度との間には, $R=0.579$ と弱い正の相関が認められた。

2) 滑膜, 軟骨・骨組織についての TNF α の免疫組織化学染色の結果, 大部分の関節で TNF α の発現が認められた。RA 滑膜では, 滑膜表層細胞, 血管内皮細胞, 線維芽細胞, 深部のマクロファージに発現が認められた。また, 軟骨・骨表面のパンヌスの部分では, 紡錘形の線維芽細胞, 骨芽細胞, 破骨細胞, 軟骨細胞に発現が認められた。この中では, 破骨細胞での発現が最も高度であった。OA 滑膜でも, 滑膜表層細胞, 血管内皮細胞に TNF α の発現が認められたが, RA での発現に比較し発現は弱かった。

3) 滑膜の組織分類と TNF α の発現との関係では, リンパ球の集簇程度と滑膜表層細胞での TNF α 保有細胞数の割合との間, および関節液中 TNF α 濃度との間に有意な関係は認められなかった。背後にある炎症像との関係については, 炎症性細胞浸潤型の B 型, 肉芽優位の C 型で, 線維化優位の D 型よりも, 滑膜表層細胞中の TNF α 保有細胞数の割合が高い傾向が認められた。また, 少数例間の比較ではあったが, B 型, C 型に関節液中 TNF α 濃度の高い関節が認められた。以上, 関節における TNF α の発現は, リンパ球の集簇の程度より, むしろ, 背後にある炎症像と相関している傾向が窺われた。

【ま と め】

RA 患者の血清, 関節液, 関節組織を対象にして, TNF α の動態を検討した。RA 患者血清, 関節液, 関節組織に高度の TNF α の発現が認められ, RA の病態形成に関与していることが示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

Tumor necrosis factor α (TNF α) は、リンパ球 B 細胞での抗体産生促進に関連するサイトカインとして報告されているが、悪性腫瘍の宿主体内にその活性が認められている他に、BCG で感作したマウスに lipopolysaccharide を投与した際の血清中に由来する移植腫瘍壊死物質としての歴史的意義が高いとされる。慢性関節リウマチ (RA) は、一種の免疫異常の状態であり、その炎症反応が関節滑膜にその病変の場が強調されているという考え方があり、TNF α がヒトの RA の発症と関節破壊にどのように関わっているかを解明することは、RA の本態が未だすべては理解されていないことに鑑み非常に重要なことである。

著者は、113 例の RA 患者、および免疫異常がなく同じ関節障害を起こす変形性関節症 (OA) 患者 33 例、および血清のみの対照として 15 例の健常人を対象として、それぞれの血清、関節液、関節滑膜における TNF α の比較検討を行った。RA の患者では、この 3 種類の検査データのすべて整ったものは 15 例であった。先ず第一に RA 患者の血清、および関節液の TNF α 濃度は、ヒト TNF α ELISA キットを用いて測定し、また採取した滑膜、あるいは人工関節などの際に採取された関節の軟骨・骨組織については、TNF α 保有細胞の同定を免疫組織化学的に施行した。この場合、ウサギ抗ヒト TNF α 抗体を用いた Avidin-Biotin-Complex 法によった。これらのデータについて、臨床的な他の因子、或は背景と対比した。その結果、RA の血清中の TNF α 濃度は、 $30.8 \pm 65.6 \text{ pg/ml}$ であったのに対し、OA では $6.8 \pm 7.3 \text{ pg/ml}$ 、健常人 $4.5 \pm 2.1 \text{ pg/ml}$ と有意の差をもって RA でその高値が認められた。関節液についても同様の結果であり、RA で平均 $61.1 \pm 68.9 \text{ pg/ml}$ 、OA で $5.8 \pm 4.0 \text{ pg/ml}$ と有意の差であった。

免疫組織化学的には、RA の滑膜では、その表層細胞、血管内皮細胞、線維芽細胞に TNF α の発現が認められた。また、破壊された関節の骨組織内においては、破骨細胞での TNF α の発現が最も著明であった。OA では、TNF α の発現は陰性ではなかったが、RA に比較して、弱いものであった。

臨床的な重症度や、組織学的なリンパ球浸潤の程度との間には、有意の差は認められなかったが、少なくともアメリカリウマチ協会によって定められた診断基準を満足する RA 患者においては、TNF α が強く関与している示唆が得られた。

このように、本論文では、解明されていない RA について、その免疫反応に関与する細胞のサイトカインの活動性を指標として新しい病態の解明をしつつ、新しい知見を得たことより、充分に学位論文に相当するものと思われる。